

République Algérienne Démocratique et Populaire

**Université Abdelhamid Ibn-Badis
Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de
la Vie**



**جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة**

DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**BACHIR BEY DJOUHAR
AMARI WIAM**

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES AGRONOMIQUES

Spécialité : Production végétale

Thème

Effet de huile essentielle de *Pistacia lentiscus* sur l'activité antimicrobienne

DEVANT LE JURY :

- **Président : Benouadah Salima MCB Université de Mostaganem**
- **Examineur : Saiah Farida MCB Université de Mostaganem**
- **Encadreur : Adjoudj Fatma MCA Université de Mostaganem**

Année universitaire : 2023/2024

Remerciement

Nous tiens tout d'abord à remercier Dieu tout puissant qui a permis que nous
soyons

ce que nous sommes aujourd'hui. Car l'homme propose mais Dieu dispose,
seigneur, veille toujours diriger nos pas.

Au terme de ce travail nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements
à :

Dr Adjoudj Fatma, pour avoir acceptée
d'encadrer ce travail et pour ses conseils et ses précieuses orientations, ses
encouragements, sa patience qu'il n'a cessé de nous apporter tout
au long de ce travail.

Nos remerciements vont également aux membres de jury d'avoir accepté
d'évaluer ce travail : **Dr Saiah Farida ; Dr Benouadah Salima**

Nous remercions chaleureusement toute l'équipe de laboratoire pour leurs
disponibilités, pour leur gentillesse et patience, pour leurs orientations et leurs
remarques objectives.

Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la
réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes très chers parents, Grace à dieu et à ceux que je suis devant vous aujourd'hui, leur soutien sans faille, sans qui rien n'aurait été possible, tout au long de mon cursus vous représentez pour moi le symbole de la bonté préexcellence, la source de tendresse, et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour ma formation. A mes frères et soeurs.

Je dédie ce travail aussi à toutes mes amies sans exception.

Je le dédie également à tous mes enseignants durant tout mon parcours universitaire sans oublier les étudiants du Master II 2023, avec qui j'ai partagé les moments les plus précieux.

DJOUHAR

Dédicace

Tout d'abord, je dédie ce travail à la lune de ma vie et la source de mon bonheur et mes efforts, qui m'ont donné le courage pour réussir « MAMAN » que j'adore, merci pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée que

Dieu te protège et te procure la santé et longue vie pleine de bonheur.

A mon cher père tu es su m'inculquer les sens de la responsabilité, de

l'optimiste et de la confiance.

A mes chers frères qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé

tout au long de mon Parcours.

A tous mes amis En témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble, je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir

radieux et plein de bonnes promesses.

A tous ceux qui me sens chers et que je n'ai pas cité.

WIAM

Sommaire

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	01

Chapitre I : *Pistacia lentiscus*

I	Étude botanique de <i>Pistacia lentiscus</i>	03
I.1	Description de la plante <i>Pistacia lentiscus</i>	04
I.2	Taxonomie.....	05
II	Répartition géographique.....	06
II.1	En Algérie.....	06
III	Etude physicochimique des différents produits de <i>Pistacia lentiscus</i>	07

Chapitre II : Les huiles Essentielles

II.1	Généralités sur les huiles essentielles.....	08
II.2	Propriétés physico-chimiques des HEs.....	08
II.3	Composition chimique.....	09
II.4	Mode d'obtention de l'huile essentielle.....	09
II.4.1	Techniques classiques.....	09
II.4.2	Techniques récentes.....	11
II.5	Activité antimicrobienne.....	13
II.5.1	Les infections microbiennes.....	13
II.5.2	Les antibiotiques.....	13
II.5.3	La résistance des bactéries aux antibiotiques.....	13
II.5.4	L'effet antimicrobien et mécanismes d'actions des huiles essentielles.....	14

Chapitre III : Matérielle et Méthode

III	Matérielle et méthode.....	16
III.1	Objectif de travail.....	16
III.2	Lieu et période de travail.....	16
III.3.1	Matériel végétal.....	16
III.4	Méthodes.....	16
III.4.1	Extraction des huiles essentielles par hydro distillation.....	17
III.4.2	Détermination du rendement en huile essentielle.....	18
III.5	Test microbiologiques.....	18
III.5.1	Souches bactériennes utilisé.....	18
III.5.2	Vérification de la pureté des souches.....	21
III.5.2.1	Aspects macroscopique.....	21
III.5.2.2	Observation macroscopique.....	21
III.5.2.3	Observation microscopique.....	22
III.5.2.4	Coloration de Gram.....	22
III.5.2.5	Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	22
III.5.3.1	Principe de la méthode.....	22
III.5.3.1	Mode opératoire.....	22
III.5.3.2	Réalisation de l'aromatogramme.....	23
III.6	Antibiotique testé.....	24
III.6.1	Préparation de l'inoculum.....	24
III.6.1.1	Cultures bactériennes et fongiques.....	24
III.6.1.2	Préparation de la suspension bactérienne.....	24
III.6.2	Ensemencement des boîtes.....	25
III.6.2.1	Technique d'ensemencement par écouvillon.....	25
III.6.2.2	Le plan d'ensemencement des boites.....	26
III.6.3	Application des disques.....	26
III.6.3.1	Matériels.....	26
III.6.3.2	Étapes.....	27
III.7	Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	27
III .7.1	Le plan de la méthode.....	29

Chapitre V I : Résultats et Discussion

IV.1	Le calcul du rendement de l'huile essentielle de lentisque (<i>Pistacia lentiscus</i>)	30
IV.1.1	Formule de calcul.....	30
IV. 1.2	Comparaison avec des études similaires.....	31
IV.2	Résultats de l'activité antimicrobienne de <i>Pistacia lentiscus</i>	31
IV. 3	La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	35
	Conclusion.....	37

Références Bibliographiques

المخلص

تقدم هذه الأطروحة دراسة للنشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري لنبات *Pistacialentiscus*. تم استخلاص الزيت العطري بطريقة التقطير المائي وتم تقييم نشاطه ضد مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض: الإشريكية القولونية، والمكورات العنقودية الذهبية، والزائفة الزنجارية، والسيتروباكترفريوندي، والمبيضات البيضاء. أظهرت طريقة الانتشار القرصي أن زيت *Pistacialentiscus* يُظهر نشاطًا واعدًا مضادًا للميكروبات، خاصة ضد المكورات العنقودية الذهبية، بمتوسط قطر تثبيط قدره 43.3 ملم. بالنسبة للبكتيريا الأخرى التي تم اختبارها (*Escherichia coli* و *Pseudomonas Citrobacterfreundii* و *aeruginosa*)، كانت النتائج أكثر دقة، حيث تتراوح مناطق التثبيط من 0 إلى 25 ملم، مما يتطلب تحليلات إضافية لتأكيد نشاط كبير مضاد للميكروبات. ومع ذلك، أظهر الزيت بعض الفعالية ضد الفطريات المسببة للأمراض *Candida albicans*، حيث يبلغ متوسط قطر التثبيط 30 ملم. تم تحديد التركيزات المثبطة الدنيا (MICs) للزيت العطري *Pistacialentiscus* ضد البكتيريا التي تم اختبارها. تشير النتائج إلى أن سلالات الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية حساسة للزيت، مع وجود MICs أقل من التركيزات العلاجية المستخدمة عادة.

الكلمات المفتاحية : النشاط المضاد للميكروبات، الزيوت العطرية، الفستق العدسي.

Résumé

Ce mémoire présente une investigation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pistacialentiscus*. L'huile essentielle a été extraite par la méthode d'hydro-distillation et son activité a été évaluée contre un panel de micro-organismes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacterfreundii* et *Candida albicans*.

La méthode de diffusion sur disque a révélé que l'huile de *Pistacialentiscus* présente une activité antimicrobienne prometteuse, particulièrement contre *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition moyen de 43,3 mm. Pour les autres bactéries testées (*Escherichia coli*, *aeruginosa* et *Citrobacterfreundii*), les résultats sont plus nuancés, avec des zones d'inhibition allant de 0 à 25 mm, nécessitant des analyses complémentaires pour confirmer une activité antimicrobienne significative. Néanmoins, l'huile démontre une certaine efficacité contre le champignon pathogène *Candida albicans*, avec un diamètre d'inhibition moyen de 30 mm. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées pour l'huile essentielle de *Pistacialentiscus* contre les bactéries testées. Les résultats indiquent que les souches d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* sont sensibles à l'huile, avec des CMI inférieures aux concentrations thérapeutiques habituellement utilisées.

Mots-clés: activité antimicrobienne, huiles essentielles, *Pistacialentiscus*.

Summary:

This dissertation presents an investigation of the antimicrobial activity of the essential oil of *Pistacia lentiscus*. The essential oil was extracted by the hydro-distillation method and its activity was evaluated against a panel of pathogenic microorganisms: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* and *Candida albicans*. The disk diffusion method revealed that *Pistacia lentiscus* oil exhibits promising antimicrobial activity, particularly against *Staphylococcus aureus*, with an average inhibition diameter of 43.3 mm. For the other bacteria tested (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Citrobacterfreundii*), the results are more nuanced, with zones of inhibition ranging from 0 to 25 mm, requiring additional analyzes to confirm significant antimicrobial activity. Nevertheless, the oil demonstrates some effectiveness against the pathogenic fungus *Candida albicans*, with an average inhibition diameter of 30 mm. Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined for *Pistacia lentiscus* essential oil against the tested bacteria. The results indicate that *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains are sensitive to the oil, with MICs lower than the therapeutic concentrations usually used.

Keywords: antimicrobial activity, essential oils, *Pistacialentiscus*.

Index des abréviations

Acronyme	Description
DMSO :	Diméthylsulfoxyde.
E coli :	Escherichia coli.
G - :	Gramme négatif.
G +:	Gramme positif.
HE :	Huile essentielle.
MHE :	Masse d'huiles essentielles
RHE :	Rendement d'huile essentielle.
S.aureus :	Staphylococcus aureus.
ATB :	Antibiotiques.
ATCC:	American Type Culture Cells.
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice.
Mg:	Milligramme
H :	Heure
Min:	Minute ml: millilitre
% :	Pourcentage
µl :	Microlitre
Mg :	Microgramme
ml :	Millilitre

Index des Tableaux

Tableau 01: Noms vernaculaires de <i>Pistacia lentiscus</i>	04
Tableau 02: Taxonomie de <i>Pistacia lentiscus</i>	07
Tableau 03: Caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la région de la récolte.	21
Tableau 04: Le rendement d'huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i>	35
Tableau 05: diamètres des zones d'inhibition après 24 h	36
Tableau 06: la sensibilité des souches bactérienne	39
Tableau 07: concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huile essentielle de <i>PISTACIA LENTISCUS</i>	41

Index des figures

Figure 01: Arbuste de <i>Pistacialentiscus</i> L...	05
Figure 02: Feuilles et fruits de Pistachier lentisque.	06
Figure 03: Inflorescence de Pistachier lentisque	06
Figure 04 : Aire de répartition du <i>Pistacialentiscus</i> en Algérie.	07
Figure 05 : Illustration présente l'entraînement à la vapeur d'eau(A) et l'hydro diffusion (B)	13
Figure 06 : Illustration présente l'hydrodistillation par la technique Clevnger (A) et Alombic (B).....	14
Figure 07 : Illustration de l'extraction par sonde ultrasonique.	15
Figure 08 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne.	18
Figure 09 : <i>Pistacia lentiscus</i> (Originale).	20
Figure 10 : Hydrodistillateur de type Clevenger (figure originale)	22
Figure 11: la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	24
Figure 12 : la bactérie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 (photo originale).....	24
Figure 13 : <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 (photo originale).....	25
Figure 14 : La préparation de la gélose nutritive (photo originale).	28
Figure 15: Les suspensions bactériennes (photo originale).	29
Figure 16 : La méthode d'ensemencement des boîtes.....	30
Figure 17 : Méthode de détermination de la CMI par une microplaque (figure originale).	32
Figure 18 : La méthode de détermination de la CMI par une microplaque	33
Figure 19 : L'huile essentielle de <i>Pistacialentiscus</i> (photo originale).....	35
Figure 20: test de l'activité antimicrobienne des HEs de <i>Pistacia lentiscus</i> sur <i>Escherichia coli</i> ATCC 2T.....	37
Figure 21: test de l'activité antimicrobienne des HEs de <i>Pistacia lentiscus</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300.	37
Figure 22 : test de l'activité antimicrobienne des HEs de <i>Pistacia lentiscus</i> sur <i>Pseudomonasa aeruginosa</i> ATCC 27853.....	38
Figure 23 : test de l'activité antimicrobienne des HEs de <i>Pistacia lentiscus</i> sur <i>Citrobactère freundii</i> ATCC 13316.	38

Figure 24 : test de l'activité antimicrobienne des HEs de <i>Pistacia lentiscus</i> sur <i>Candida albicans</i> ATCC10231.	39
Figure 25: La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de <i>PISTACIA LENTISCUS</i>	42

INTRODUCTION

Introduction

Introduction

Depuis des millénaires, les plantes médicinales ont été utilisées par les populations du monde entier pour traiter une large variété de maladies. Leur richesse en molécules bioactives leur confère des propriétés biologiques diverses, faisant d'elles des acteurs majeurs de la pharmacopée traditionnelle.

Ces substances naturelles, présentes dans différentes parties de la plante (feuilles, fleurs, racines...), ont démontré des vertus thérapeutiques remarquables. Elles ont été employées par les tradipraticiens pour soulager divers maux et pathologies, bien avant la compréhension des mécanismes sous-jacents aux maladies.

L'utilisation des plantes aromatiques et médicinales remonte à l'Antiquité, comme le souligne **Buchbauer (2011)**. Leurs extraits volatils, riches en composés bioactifs, ont joué un rôle crucial dans le traitement des maladies infectieuses, avant même la découverte des micro-organismes responsables.

En Algérie, comme dans d'autres pays en développement, les maladies infectieuses et parasitaires représentent un défi majeur de santé publique. La situation est d'autant plus préoccupante avec l'émergence de souches microbiennes résistantes aux antibiotiques et de nouvelles infections non répertoriées, rendant inefficaces les traitements existants (**Arif et Tahir, 2018**). Face à ces limitations des antibiotiques disponibles, la recherche de nouvelles substances antibactériennes efficaces devient une nécessité urgente.

L'Algérie possède un riche patrimoine végétal avec plus de 3 150 espèces, dont plus de 300 à usage médicinal ou aromatique (**Mokkadem, 1999**). Parmi ces plantes, notre choix s'est porté sur le *Pistacia lentiscus*, un arbuste ou arbre dioïque de la famille des *Anacardiaceae*, largement répandu dans la région méditerranéenne (**Hacini et Djelloul, 2017**).

L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est obtenue par hydrodistillation des différentes parties aériennes de la plante et de sa résine (**Amhamdi et al, 2009**). Elle se présente sous forme d'un liquide limpide de couleur jaune, dégageant une odeur aromatique puissante et pénétrante (**Arab et al., 2014**).

Objectifs de l'étude :

Préparation et caractérisation d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*:

-Extraction d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

Introduction

-Déterminer les rendements d'extraction.

Évaluation de l'activité antimicrobienne :

-Évaluer l'effet antimicrobien des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* sur des bactéries à Gram positif, Gram négatif et des champignons.

-Tester l'activité antimicrobienne de l'huile de *Pistacia lentiscus* sur les mêmes souches microbiennes.

La première partie de cette étude est consacrée à une recherche bibliographique sur la plante étudiée, sa description, sa répartition géographique, les huiles essentielles, caractérisation des espèces étudiées et enfin l'activité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles à tester. La seconde partie du travail est réservée à l'étude expérimentale ; matériels et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail aussi les résultats obtenus suivis par une discussion. Enfin, une conclusion.

*Références
bibliographiques*

I. Étude botanique de *Pistacia lentiscus*

Pistacia lentiscus, communément appelé arbre au mastic, est une plante médicinale et aromatique spontanée du bassin méditerranéen. (Haloui et al., 2018). Connu sous divers noms vernaculaires tels que Darou, dherou ou drou en arabe local, lentisque en français et lentisk en anglais, cet arbuste dioïque se distingue par son parfum résineux caractéristique (Bouaine, 2017).

Pistacia lentiscus se présente généralement sous forme d'arbuste à feuilles persistantes, pouvant atteindre une hauteur de 2 à 3 mètres, voire 5 à 6 mètres dans des conditions optimales (Bouaine, 2017). Sa croissance est lente, avec une maturité atteinte vers 40 à 50 ans. Le tronc, grisâtre à l'origine, s'assombrit et se crevasse avec le temps. Les feuilles, disposées de manière alterne, sont tannées et pennées, composées de 5 à 6 paires de folioles vert foncé portées par des pétioles ailés.

Tableau 1 : Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus* (Dahmani, 2015).

Langue	Nome
Nome en arabe	Au –mastic edhrourerou
Nome en espagnol	Lentiscocharneca
Nome France	Arbre au mastic pistachier lentisque
Nom en anglais	Mastic tree lentiskncyprus sumac
Nom en Italian	Lentischiolentiscosondro
Nom en Algeria	Darouderou

I .1. Description de la plante *Pistacia lentiscus* :

Pistacia lentiscus est un arbrisseau vivace de trois mètres de hauteur, ramifié, (Beldi et al., 2021). thermophile, il s'agit d'une espèce dioïque présentant des pieds mâles et femelles distincts, dégageant une odeur résineuse forte (Abdeldjelil, 2016).



Figure 01: Arbuste de *Pistacia lentiscus* L (Charef, 2011).

Pistacia lentiscus est caractérisée par des feuilles persistantes, composées de 3 à 6 paires de folioles coriaces luisantes, (Iemoine, 2005), glabres, alternes, paripennées, (Benguedouar et al., 2022), elles possèdent trois ou quatre sépales, elles sont caractérisées par un ovaire avec un style court à trois stigmates, elles présentent des formes elliptiques, lisses, et dont le pétiole est bordé d'une aile verte (Abdeljalil, 2016). Les fleurs de *P. lentiscus* sont dioïques, calice à 5 lobes dans les fleurs mâles, à 3-4 dans les fleurs femelles, pétales nuls, 5 étamines, insérées au fond du calice, à filets courtes et soudés à la base, à anthères grandes, tétragones, styles très courts, à 3 stigmates arqués en dehors, drupe peu charnue, rouge (Coste, 1901). Les fleurs femelles sont vert jaunâtre et les fleurs mâles sont rouge foncé (Merzougui, 2015). La floraison de lentisque s'étend du mois de Mars jusqu'au mois de Mai (Benhammou et AtikBekkara, 2009). Le fruit est une grappe de petites drupes globuleuses, d'environ 5 mm de diamètre, initialement rouges avant de devenir noires à maturité (octobre à novembre), peu développée, ont une amande par noyau (Botineau, 2015). L'écorce de *Pistacia lentiscus* est Rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte (Messaoudi et Kessbia, 2017).

Le mastic est la résine obtenue par incisions légères sur tout le tronc du lentisque et sur ses branches principales. Elle s'écoule alors claire et aromatique, et elle durcit en quelques heures (Bardeau, 2009), de couleur jaune clairLe « mastic » est obtenu en été (Lanfranchi et al, 1999).



Figure 02: Feuilles et fruits de Pistachier lentisque (Bammou et al, 2014).



A



B

Figure 03: Inflorescence de Pistachier lentisque : (A) Fleurs femelle, (B) fleur mâle (Chouder et Drici, 2019).

I .2.Taxonomie :

Le lentisque, ou pistachier lentisque appartenant à la famille cosmopolite des *Anacardiaceae* qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces. (Bozorgi et al., 2013) Selon la classification commune de Zohary (1952) cité par AL-SaghiretPorter (2012), le genre *Pistacia* regroupe 10 autres espèces : *Pistaciamexicana* ; *Pistaciatexana* ; *Pistaciasaportae* ; *Pistaciaweinmannifolia* ; *Pistaciaatlantica* ; *Pistaciachinensis* ; *Pistaciakhinjuk* ; *Pistaciapalaestina* ; *Pistacia. Terebinthus* (le pistachier térébinthe) et enfin *Pistaciavera*, le pistachier vrai ou commun, la seule espèce cultivée pour l'alimentation humaine et la plus importante économiquement.

Tableau 02 : Taxonomie de *Pistacia lentiscus* (Maameri, 2014).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Pistacia</i>

II. Répartition géographique

II .1.En Algérie :

Le Pistachier lentisque en Algérie : Une présence répandue dans le nord du pays.

Le Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*) est un élément caractéristique de l'étage thermo-méditerranéen en Algérie. On le trouve principalement dans le nord-ouest du pays, sa limite sud se situant aux environs de Mostaganem. Sa présence au-delà de l'Atlas Saharien n'a pas été signalée. L'espèce est dispersée sur l'ensemble du littoral algérien et s'adapte à divers types de sols, subhumides et semi-arides. On le rencontre fréquemment dans le bassin du Soummam, où il cohabite avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Belhadj, 2000).

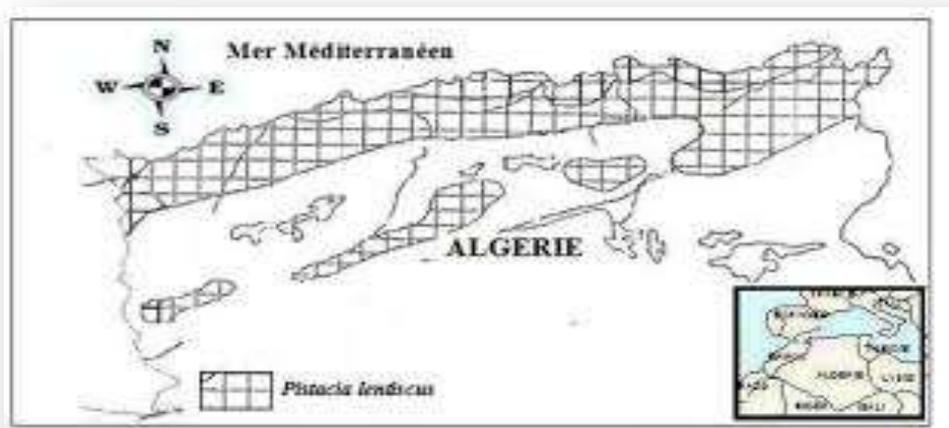


Figure 04 : Aire de répartition du *Pistacia lentiscus* en Algérie

(Quezel et Santa., 1962- 1963).

III. Etude physicochimique des différents produits de P lentiscus :

III .1. Fruits : Les fruits de P. lentiscus présentent une très forte teneur en acides gras monoinsaturés (Trabelsi et al, 2012). Et une très forte teneur en anthocyanes, leucoanthocyanes, tannins totaux, tannins galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon. Avec une présence modérée des mucilages et une absence totale des saponosides, des sénosides, des quinones libres, des coumarines, des irridoïdes et des alcaloïdes. (Arab et al, 2014)

III .2. Feuilles : Les analyses révèlent une très forte teneur des feuilles en leucoanthocyanes, en saponosides, en sénosides, en alcaloïdes et en tannins totaux et une teneur moyenne en glucosides (Arab et al., 2014) .

III .3. Résine : La résine présente cinq constituants majeurs solubles dans l'éthanol : α -pinène (40%), β pinène (1,5%), β -myrcène (9%), le limonène (1,0%), et β -caryophyllène (5%)(Koutsoudaki et al, 2005).

II.1. Généralités sur les huiles essentielles :

Les huiles essentielles (HEs) sont des substances odorantes et volatiles, non grasses, extraites d'un végétal sous forme liquide (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**). Elles sont synthétisées par des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires (**Bakkali et al., 2008**). La plupart des végétaux renferment des HE, mais habituellement en quantité infime.

Seules les plantes dites « aromatiques » en produisent en quantité suffisante (**Lardry et Haberkorn, 2007**). Ces dernières fabriquent les huiles essentielles pour se protéger, se soigner, se réparer : elles leur servent à séduire les insectes pollinisateurs, se protéger des brûlures du soleil ou du froid, des prédateurs et des maladies, et enfin à guérir (blessures, maladies, attaques diverses...) (**Festy, 2011**).

Les HEs peuvent être accumulées dans tous les types d'organes végétaux par exemple des fleurs (oranger, rose, lavande) mais aussi des feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble) et bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, camphrier, santal), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits secs (anis, badiane, persil), des graines (muscade) (**AFSSAPS, 2008**).

La biosynthèse et l'accumulation des molécules aromatiques sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées. Ces structures, sont souvent situées sur, ou à proximité de la surface de la plante et elles varient selon les familles botaniques, poils sécréteurs externes dans le cas des Labiées et des Géraniacées, cellules sécrétrices dans le cas des Lauracées, des Magnoliacées et des Pipéracées, poches sécrétrices dans le cas des Myrtacées et des Aurantiacées et canaux sécréteurs pour les Ombellifères et les Conifères (**Haddouchi et Benmansour, 2008**).

De nombreux procédés sont utilisés pour l'extraction de ces substances. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau, est le procédé le plus pratiqué dans l'industrie des arômes. Le choix de la technique dépend principalement de la matière première. Ce choix conditionne les caractéristiques de l'HE, en particulier: viscosité, couleur, solubilité, volatilité, enrichissement ou appauvrissement en certains constituants (**Haddouchi et Benmansour, 2008; AFSSAPS, 2008**).

II.2. Propriétés physico-chimiques des HEs :

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène. Ses propriétés selon (**Bouaine, 2017**) sont :

- Liquides à température ambiante rarement colorées,
- Volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes ».

- Leur point d'ébullition varie de 160 °C à 240 °C.
- Leur densité est inférieure à celle de l'eau (les HEs de sassafras de girofle ou de Cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée et sont douées d'un pouvoir rotatoire (elles sont soit dextrogyres ou lévogyres).
- Solubles dans les solvants organiques et sont liposoluble et peu solubles dans l'eau.
- Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation.

II.3. Composition chimique :

Les huiles essentielles peuvent être classées en plusieurs familles biochimiques. L'activité thérapeutique d'une huile essentielle est liée à sa structure biochimique, aux groupes fonctionnels de ses composés principaux (alcools, phénols, composés terpéniques...) et à leurs actions synergiques (**Bouaine, 2017**). Les constituants des HEs appartiennent à deux grands groupes, les terpénoïdes (les monoterpènes et les sesquiterpènes) d'une part et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents d'autre part.

Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant enjeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

II.4 .Mode d'obtention de l'huile essentielle :

Le choix de la technique dépend principalement de la matière première : la fragilité de la plante utilisée, la partie du végétal traitée et ses caractéristiques. Les quantités d'essences secrétées par les plantes sont extrêmement variables ainsi que le rendement « HE/matière première végétale », qui varie d'une plante à une autre : de 150 ppm à plus de 20%. La technique utilisée conditionne les caractéristiques de l'huile essentielle, en particulier la viscosité, la couleur, la solubilité, la volatilité, l'enrichissement ou l'appauvrissement en certains constituants (**Desmares et al, 2008**).

II.4.1. Techniques classiques :

Pratiquée sous des différentes formes, la distillation est sans doute la méthode la plus employée pour extraire les essences des plantes (**Kone, 2001**).

➤ Parmi ces techniques :

- **Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :**

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière

végétale située au-dessus d'une grille fig.3.A. Durant le passage cette vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite condensé dans le réfrigérant avant d'être décanté dans l'essencier. Du fait de leur différence de densité, les HE et l'eau sont séparées en deux phases : phase liquide et phase organique et les HE sont ensuite récupérées (Mnayer, 2014).

Le distillat aqueux qui subsiste après la séparation est appelé « eau aromatique », « hydrolat » ou « eau distillée florale » (Desmares et al, 2008). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Fadi, 2011).

- **Extraction par hydro diffusion :**

C'est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur fig.3.B (Bouhaddouda, 2015). L'hydro diffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (Fadi, 2011).

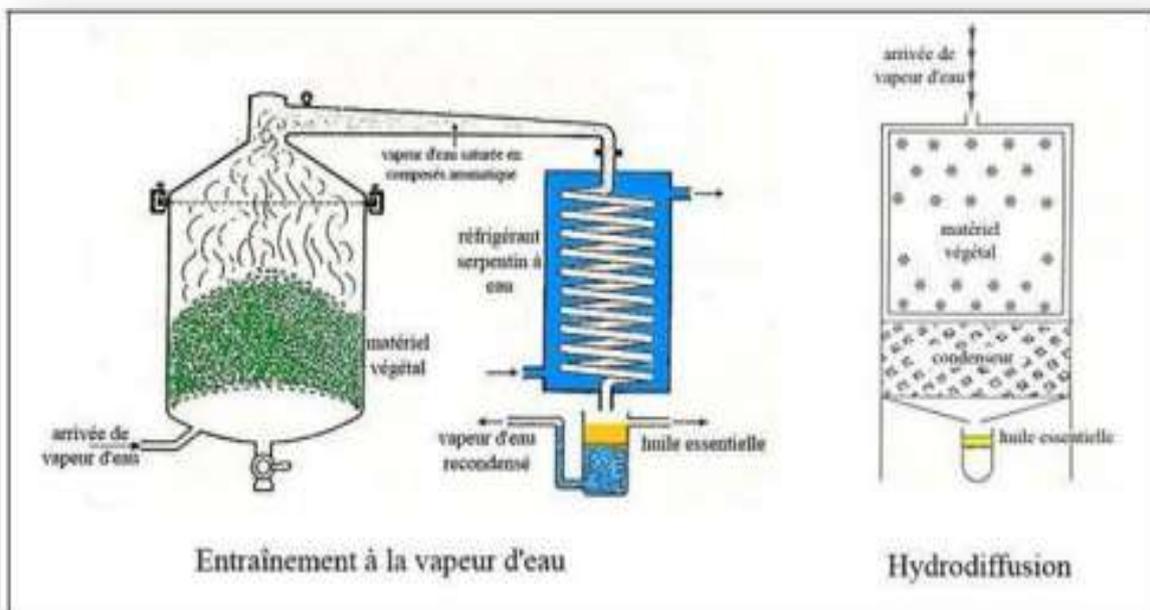


Figure 05 : Illustration présente l'entraînement à la vapeur d'eau (A) et l'hydrodiffusion (B) (Fadi, 2011).

- **Extraction par hydro distillation**

L'hydrodistillation est l'une des procédés les plus simples et le plus anciens (**Beneteaud, 2011**). Dans ce procédé la matière première à traiter est entièrement immergée dans l'eau dans un ballon fig.4.A (clevenger) lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic fig.4.B industriel qui est ensuite portée à ébullition. La vapeur d'eau en s'échappant emporte avec elle l'essence recherchée, les deux vapeurs se concentrent au niveau du col de cygne de l'alambic puis s'acheminent par un serpentin refroidi dans un circuit d'eau et se condensent afin d'être recueillies dans un essencier. La séparation entre eau et huile essentielle se fait par différence de densité, ce qui permet de récupérer facilement l'huile essentielle. Cette méthode est généralement utilisée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées (**Bouhaddouda, 2015**).

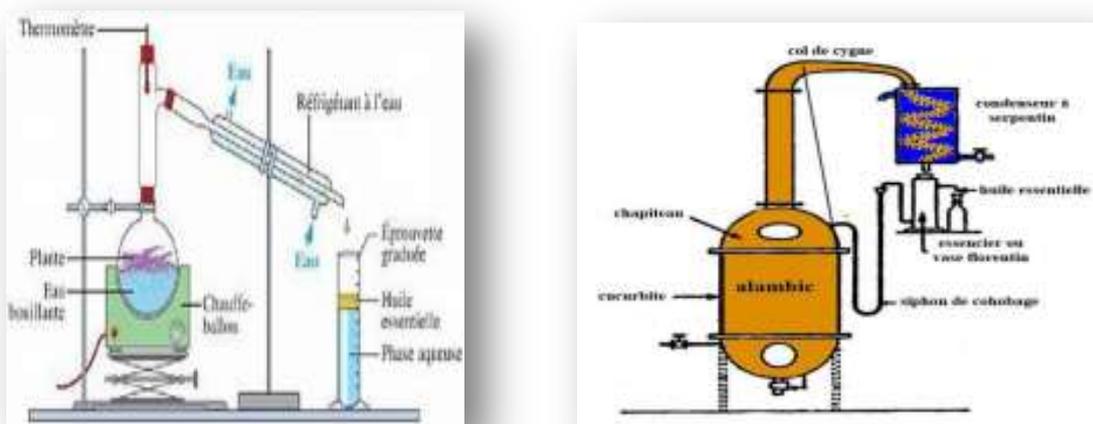


Figure 06 : Illustration présente l'hydrodistillation par la technique Clevenger

(A) et Alambic (B) (**Fadi, 2011**).

II.4.2. Techniques récentes

Ce sont des techniques qui répondent à un bon nombre d'exigences actuelles en termes de vitesse et d'automatisation utilisés pour obtenir les huiles essentielles ou d'autres composés des plantes. Parmi ces techniques : l'extraction aux ultrasons et l'extraction par micro-ondes.

- **Extraction assistée par microondes**

Cette méthode permet de réaliser des extractions à pression atmosphérique du matériel végétal frais ou un échantillon sec réhydraté. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes. Le chauffage interne de l'eau intrinsèque de la plante permet de

dilater ses cellules et provoquer la distillation d'un mélange d'eau/huile essentielle. Un système réfrigérant situé à l'extérieur du four à micro-ondes permet la condensation du distillat en continu, puis le mélange est dirigé dans l'appareil de Clevenger où les composés aromatiques sont obtenus par simple séparation de phase. Pour l'extraction des autres composés végétale le solvant permet d'attaquer la paroi cellulaire et la pénétrer pour atteindre les composés d'intérêt (Destandau, 2013).

- **Extraction aux ultrasons**

Les ultrasons sont des ondes mécaniques capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). Les ultrasons de puissance fonctionnant à une intensité entre 20 et 100 kHz sont utilisés pour l'extraction des arômes ainsi que d'autres molécules des plantes (Dolatowski *et al.*, 2007).

Lorsque les ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de dépression (raréfaction). Quand les cycles de raréfaction augmentent, les forces maintenant la cohésion du liquide sont vaincues et des bulles de cavitation apparaissent. Les bulles vont imploser à côté de la surface du matériel végétal et provoquer la rupture des membranes des cellules qui libèrent leurs contenus à l'extérieur fig.5 (Mnayer, 2014).

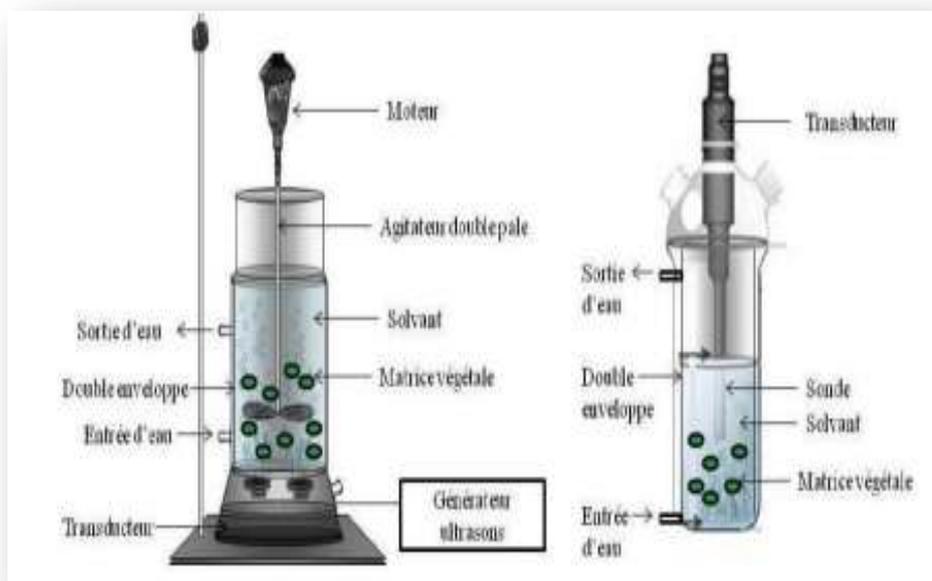


Figure 07 : Illustration de l'extraction par sonde ultrasonique (Mnayer, 2014).

II.5. Activité antimicrobienne**II.5.1. Les infections microbiennes**

Les bactéries sont responsables de plusieurs infections microbiennes qui représentent la cause majeure de mortalité dans le monde. Leur résistance aux antibiotiques est de plus en plus prononcée. Pour arrêter ce processus de synthèse-résistance, il est nécessaire de chercher une autre approche afin de diminuer ou délimiter les affections sans l'utilisation des produits synthétiques, donc il est évident de trouver des solutions par l'utilisation des molécules bioactives qui sont à base de plantes (**Vanden Berghe et Vlietinck, 1991**).

Salmonella sp, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus cereus* sont des agents impliqués dans les toxi-infections alimentaires (TIA) qui sont des accidents aigus d'intoxication consécutifs à l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries ou par leurs toxines (**Buisson et Teyssou, 2002**). *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 9,2 % de l'ensemble des infections nosocomiales, le plaçant ainsi au 3ème rang des espèces isolées juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**Amazian et al., 2010**). *Proteus mirabilis* est responsables de 80% des infections à *Proteus*. Parmi les quelles : infections urinaires, infections des voies respiratoires (surtout en milieu hospitalier), infections ORL et pneumopathies, septicémies et bactériémies.

II.5.2. Les antibiotiques :

Les antibiotiques sont des substances chimiques naturelles produites par des bactéries et certains champignons, capables d'inhiber d'autres microorganismes (**Nauciel et Vildé, 2005**). Ils agissent soit en bloquant la prolifération des bactéries (molécules bactériostatiques), soit en les détruisant (molécules bactéricides ou bactériolytiques) (**Clos, 2012**). Par les différents modes d'action qu'ils possèdent, les antibiotiques peuvent agir sur : la synthèse du peptidoglycane et donc sur la paroi cellulaire, les membranes, la synthèse protéique et la synthèse des acides nucléiques (**Demoré et al., 2012**). Environ 5 000 AB ont été identifiés à partir des cultures de bactéries à Gram négatif, Gram positifs et les champignons filamenteux (**Gebreyohannes et al., 2013**).

II.5.3. La résistance des bactéries aux antibiotiques :

L'efficacité des antibiotiques est menacée par la capacité des bactéries à s'adapter et à résister aux traitements. Ce sont les bactéries, et non les humains ou les animaux, qui sont résistantes. On parlera donc de résistance lorsque les bactéries deviennent insensibles aux AB,

mais les bactéries qui répondent aux antibiotiques sont dites sensibles. Les souches résistantes peuvent provoquer des infections chez les humains et les animaux qui sont plus difficiles à traiter que les souches non résistantes ou sensibles, et finissent par mourir si aucune solution n'est trouvée (Veyssiere, 2019). Chez l'homme, l'usage excessif des AB et le mauvais suivi des traitements (Li et Wang, 2005) sont les causes majeures de l'apparition de cette résistance. L'utilisation des AB en élevage animal compte également une part de responsabilité dans le développement général de la résistance (Wegener, 2003).

II.5.4.L'effet antimicrobien et mécanismes d'actions des huiles essentielles :

Les propriétés antibactériennes des huiles essentielles sont connues de longue date. Leur effet inhibiteur affecte les espèces bactériennes (gram-positives et gram-négatives). Certaines molécules des huiles essentielles ont des propriétés antibactériennes. En particulier, phénol (carvacrol, thymol, eugénol, etc.), alcool (linalool, etc.), aldéhyde (cinnamaldéhyde, etc.). Les huiles essentielles riches en telles molécules ont généralement le plus grand effet antibactérien (Bouhdid et al., 2012). De nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (Burt, 2004). Leur spectre d'activité est très large, car ils sont efficaces contre un grand nombre de bactéries, y compris celles qui développent une résistance aux antibiotiques (Toure, 2014). Cet effet est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Oussou, 2009). Les HE ont une double action contre les microorganismes, elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatiques) (Moro Buronzo, 2013). Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailiene et al., 2006 ; Oussou, 2009). En général, les bactéries Gram-négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram-positives en raison de leur structure de membrane externe. Cette dernière est en effet riche en lipopolysaccharide (LPS), qui augmente l'hydrophilie et empêche les composés hydrophobes des huiles essentielles (Cristiani et al., 2007). Les HE agissent en empêchant leur multiplication, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines (Tohidpour et al., 2010 ; Warnke et al., 2013). D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases (Calsamiglia et al., 2007 ; Goetz et Ghedira , 2012) :

- Attaque de la paroi bactérienne, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;

- Acidification de l'intérieur de la cellule provoquant la coagulation des constituants cellulaires par la dénaturation des protéines, ce qui bloque la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, ce qui cause la mort de la bactérie.

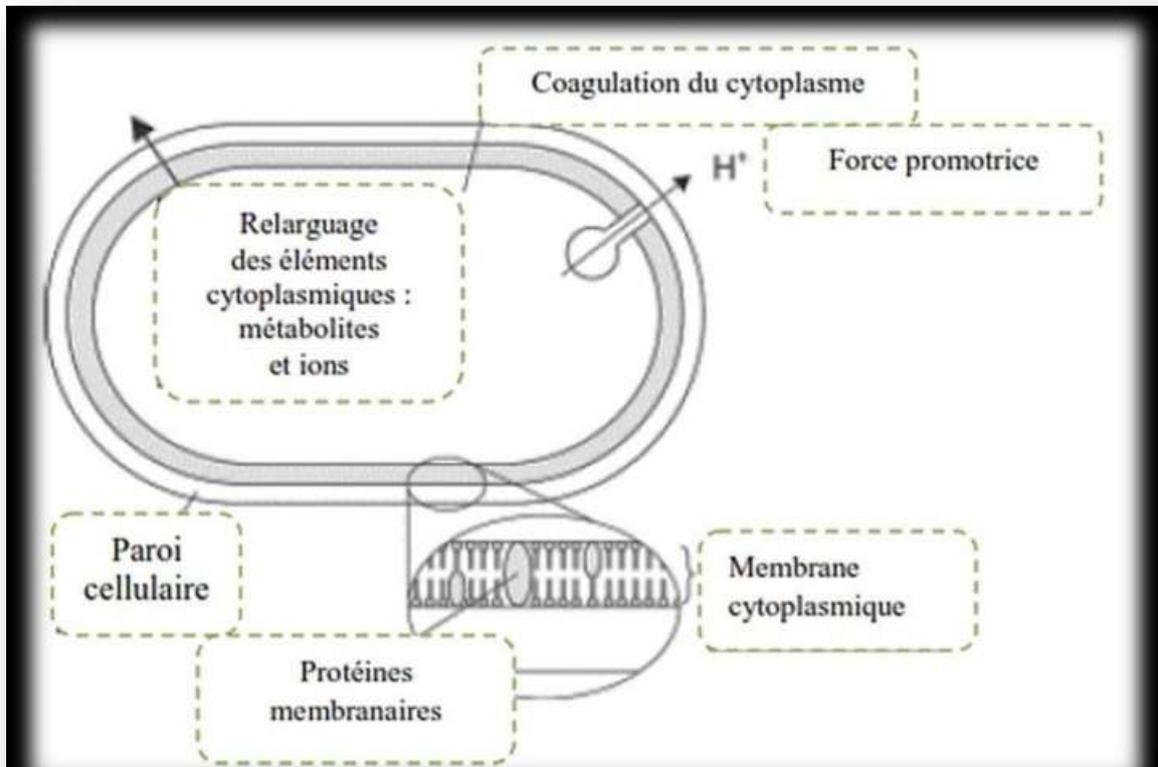


Figure 08 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).

Matériel
&
Méthodes

III. Matériels et méthodes :

III.1. Objectif de travail :

- Extraction d'huile essentielle de plante *Pistacia lentiscus* par l'utilisation de méthodes d'extraction par l'hydrodistillation.
- Recherche de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* sur certains bactéries et champignons de références : *Escherichia coli* ATCC 2T922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Citrobactère freundii* ATCC 13316, *Candida albicans* ATCC10231.

III.2. Lieu et période de travail :

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de biochimie 1 et celui de microbiologie 1 à la faculté des Science de Nature et de la vie de l'Université de Mostaganem, il a porté sur l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur les souches étudiées.

Ce travail est pendant une période s'étendant d'avril à mai 2024.

III.3. Matériels :

III.3.1 Matériel végétal :

Notre étude a porté sur les feuilles de *Pistacia lentiscus* récoltées de la région d'ACHAACHA de la wilaya MOSTAGANEM durant le mois de 17 Mars de l'année 2024. Après la récolte et le nettoyage des échantillons, ils ont été laissés sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré.



Figure 09 : Pistacia lentiscus(Originale).

Les situations géographiques ainsi que les étages bioclimatiques de la région de la récolte sont représentées dans le **Tableau 03** :

Tableau 03 : Caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la région de la récolte.

Région	Altitude	Latitude	Etat bioclimatique
ACHAACHA	Varie entre 200 et 500 mètres	512 mètres	-Le climat de la commune d'Achaacha est de type méditerranéen tempéré. -Les hivers sont doux et humides, avec des températures moyennes comprises entre 8°C et 12°C. -Les étés sont chauds et secs, avec des températures moyennes comprises entre 25°C et 30°C.

III.4. Méthodes :

III.4 .1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation :

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple la plus anciennement utilisée (**Mebarki, 2010; Abdelli, 2017**). L'extraction de l'huile essentielle des feuilles (*Pistacia lentiscus*) a été effectuée à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger, cela consiste à introduire 1kg de matériel végétal sec dans une cocotte de 2 litres contenant de l'eau distillée, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 heures à l'aide d'une plaque chauffante électrique. L'huile essentielle obtenue a été conservé dans un flacon en verre brune dans le Réfrigérateur.



Figure 10 : Hydrodistillateur de type Clevenger (**figure originale**)

III.4.2 Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter {sèche}, Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE}\% = (\text{MHE}/\text{Ms}) \cdot 100$$

RHE: Rendement de l'huile essentielle (%).

MHE: Quantité d'extrait récupéré (masse d'huile essentielle récupérée) en (g).

Ms: Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

III.5. Test microbiologiques :

L'activité antimicrobienne a été évaluée dans notre étude par quatre souches microbiennes et deux levures, il s'agit de :

- Une seule bactérie Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 43300
- Les souches bactérienne Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 2T922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Citrobacter freundii* ATCC 13316;
- Les levures : *Candida albicans* ATCC 10231;

Ces micro-organismes de référence sont fournis par le laboratoire de microbiologie appliquée de l'université de Mostaganem et appartenant à l'Américain type culture collection (ATCC).

III.5.1. Souches bactériennes utilisé

▪ ***Escherichia coli*** ATCC 2T922

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif (**Patrick et al., 1988**), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm (**Steven et al., 2004**).

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux.

- ✓ Règne : Bactérie
- ✓ Ordre : Enterobacterales
- ✓ Famille : Enterobacteriaceae
- ✓ Genre : *Escherichia*
- ✓ Espèce : *Escherichia coli* (**Sabri, 2008**).

▪ **Staphylococcus aureus ATCC 43300**

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des Cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Elles sont immobiles, asporules, habituellement sans capsule, coagulase et catalase positive. De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré (Patrick et al., 1988).

- ✓ Règne : Bacteria
- ✓ Classe : Bacilli
- ✓ Ordre : Bacillales
- ✓ Famille : Staphylococcaceae
- ✓ Genre : Staphylococcus
- ✓ Espèce : *Staphylococcus aureus* (Yves et Michel, 2009)



Figure 11: la bactérie *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

▪ **Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

Les espèces *P. aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires. *P. aeruginosa* est une espèce aérobie à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes (Palleroni, 2008).

- ✓ Règne: Bacteria
- ✓ Phylum: *Proteobacteria*
- ✓ Classe: *Gamma proteobacteria*
- ✓ Ordre : *Pseudomonadales*
- ✓ Famille : *Pseudomonadaceae*
- ✓ Genre : *Pseudomonas*

- ✓ Espèce : *aeruginosa*

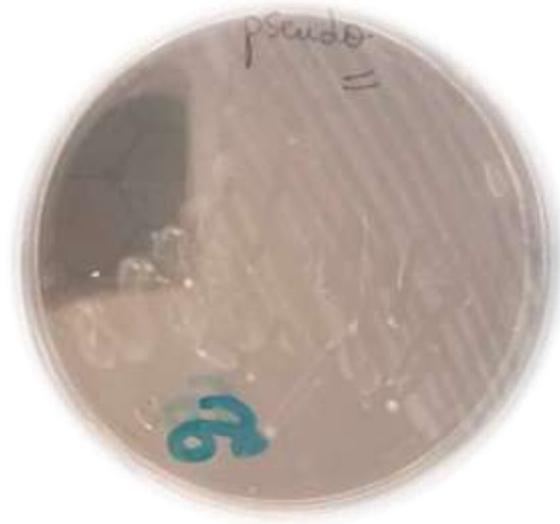


Figure 12 : la bactérie de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (photo originale)

- ***Citrobacter freundii* ATCC 13316**

Citrobacter freundii est une bactérie Gram-négative facultative anaérobie. Elle est présente dans l'environnement, notamment dans l'eau, le sol et les aliments.

- ✓ **Domaine:** *Bacteria*
- ✓ **Phylum:** *Proteobacteria*
- ✓ **Classe:** *Gammaproteo bacteria*
- ✓ **Ordre:** *Enterobacterales*
- ✓ **Famille:** *Enterobacteriaceae*
- ✓ **Genre:** *Citrobacter*
- ✓ **Espèce:** *Citrobacter freundii*
- ✓ **Souche:** *ATCC 13316*

Les champignons utilisés

- ***Candida albicans* ATCC 10231**

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes (Chu et al., 1993).

Au niveau morphologique, cette levure peut mesurer de 3 à 15 µm, et est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut trouver in vitro et in vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire (Buffoet et al., 1984).

Règne : champignon

- ✓ Classe : *Blastomycete*
- ✓ Ordre : *moniliales*

- ✓ **Famille** : *moniliaceae*
- ✓ **Genre** : *candida*
- ✓ **Espèce** : *candida albicans*



Figure 13 : *Candida albicans* ATCC 10231 (photo originale)

III.5.2. Vérification de la pureté des souches

III.5.2.1 Aspects macroscopique

La vérification de la pureté des souches est une étape cruciale en microbiologie, permettant de s'assurer qu'une culture ne contient qu'un seul type de micro-organisme. Cela est essentiel pour des applications ultérieures telles que l'identification, l'étude des caractéristiques et la recherche.

Deux méthodes principales sont couramment utilisées pour vérifier la pureté des souches: l'observation macroscopique et microscopique.

III.5.2.2 Observation macroscopique

L'observation macroscopique consiste à examiner visuellement la culture sur milieu gélosé ou liquide à la recherche de signes de contamination (**Badiset al, 2005**).

Sur milieu gélosé :

- **Caractéristiques des colonies** : taille, forme, couleur
- **Présence d'un aspect trouble** : absence de colonies isolées et homogènes

En milieu liquide:

- **Homogénéité du milieu:** absence de dépôts, de filaments ou de turbidité

III .5.2.3. Observation microscopique

L'observation microscopique permet d'examiner la morphologie des micro-organismes en détail, fournissant des informations précieuses pour l'identification et la distinction des espèces (Sami., 2012).

III .5.2.4 Coloration de Gram:

Technique fondamentale en bactériologie, elle permet de classer les bactéries en deux groupes en fonction de la structure de leur paroi cellulaire: Gram positives et Gram négatives (Lezzar et Abdelmalek, 2016).

III .5.2.5 .Évaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (HEs) peut être réalisée par la méthode de diffusion sur disque, également connue sous le nom d'aromatogramme (Bachiri et al., 2016). Cette technique, similaire à l'antibiogramme, permet de déterminer la sensibilité des micro-organismes vis-à-vis des HEs en mesurant la zone d'inhibition autour de disques imprégnés d'huile essentielle.

III .5.3. Principe de la méthode:

La méthode de diffusion sur disque repose sur la diffusion des composés antimicrobiens présents dans l'huile essentielle dans le milieu de culture gélosé, inhibant la croissance des micro-organismes sensibles. La zone d'inhibition, correspondant à la zone exempte de croissance bactérienne autour du disque, est indicative de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle testée.

III .5.3.1.Mode opératoire:

- ✓ **Préparation du milieu de culture:**

1. Bouillon nutritif:

- Dissoudre 2 g de NutrientBroth dans 250 ml d'eau distillée.
- Répartir la solution dans des tubes à essai de 5 ml.
- Stériliser les tubes à essai à l'autoclave.

2. Gélose nutritive:

- Dissoudre 8 g de NutrientBroth et 20 g d'Agar-agar dans 1 litre d'eau distillée.
- Répartir la solution dans des flacons.
- Stériliser les flacons à l'autoclave.
- Après stérilisation, verser 20 ml de gélose nutritive stérile dans des boîtes de Petri.
- Laisser solidifier la gélose.

III .5.3.2 Réalisation de l'aromatogramme:

1. Inoculation du milieu de culture:

- Ensemencer la surface de la gélose solidifiée avec une suspension bactérienne standardisée, garantissant une couverture homogène.

2. Dépôt des disques d'huile essentielle:

- Déposer des disques stériles en papier filtre imprégnés d'une quantité définie d'huile essentielle sur la surface de la géloseensemencée.
- Espacer les disques uniformément pour éviter les chevauchements des zones d'inhibition.

3. Incubation:

- Incuber les boîtes de Pétri à température optimale pour la croissance du micro-organisme testé pendant 24 à 48 heures.



Figure 14 : la préparation de la gélose nutritive (photo originale).

III .6. Antibiotique testé

L'antibiotique utilisé comme témoin dans cette étude est l'Amoxypen (amoxicilline)
1g injectable.

III .6.1. Préparation de l'inoculum

III .6.1. 1. Cultures bactériennes et fongiques :

- Utiliser des cultures pures d'*Escherichia coli* (ATCC 2T922), *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Citrobacterfreundii* ATCC 13316, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Candida albicans* ATCC 10231.
- Les cultures doivent avoir été incubées sur milieu d'isolement pendant 18 à 24 heures maximums.

III .6.1. 2. Préparation de la suspension bactérienne:

- Prélever quelques colonies bien isolées et identiques à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur stérile.
- Inoculer les colonies dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile.
- Homogénéiser vigoureusement la suspension bactérienne.



Figure 15: les suspensions bactériennes (photo originale).

III .6.2. Ensemencement des boîtes

III .6.2.1. Technique d'ensemencement par écouvillon

- Tremper un coton-tige stérile dans la suspension bactérienne.
- Essorer le coton-tige en le pressant fermement contre la paroi du tube pour éliminer l'excédent de liquide.
- Frotter le coton-tige sur toute la surface de la gélose sèche, en stries serrées de haut en bas.
- Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois et en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Terminer l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Changer de coton-tige entre chaque boîte de Pétri.

III .6.2.2. Le plan d'ensemencement des boîtes

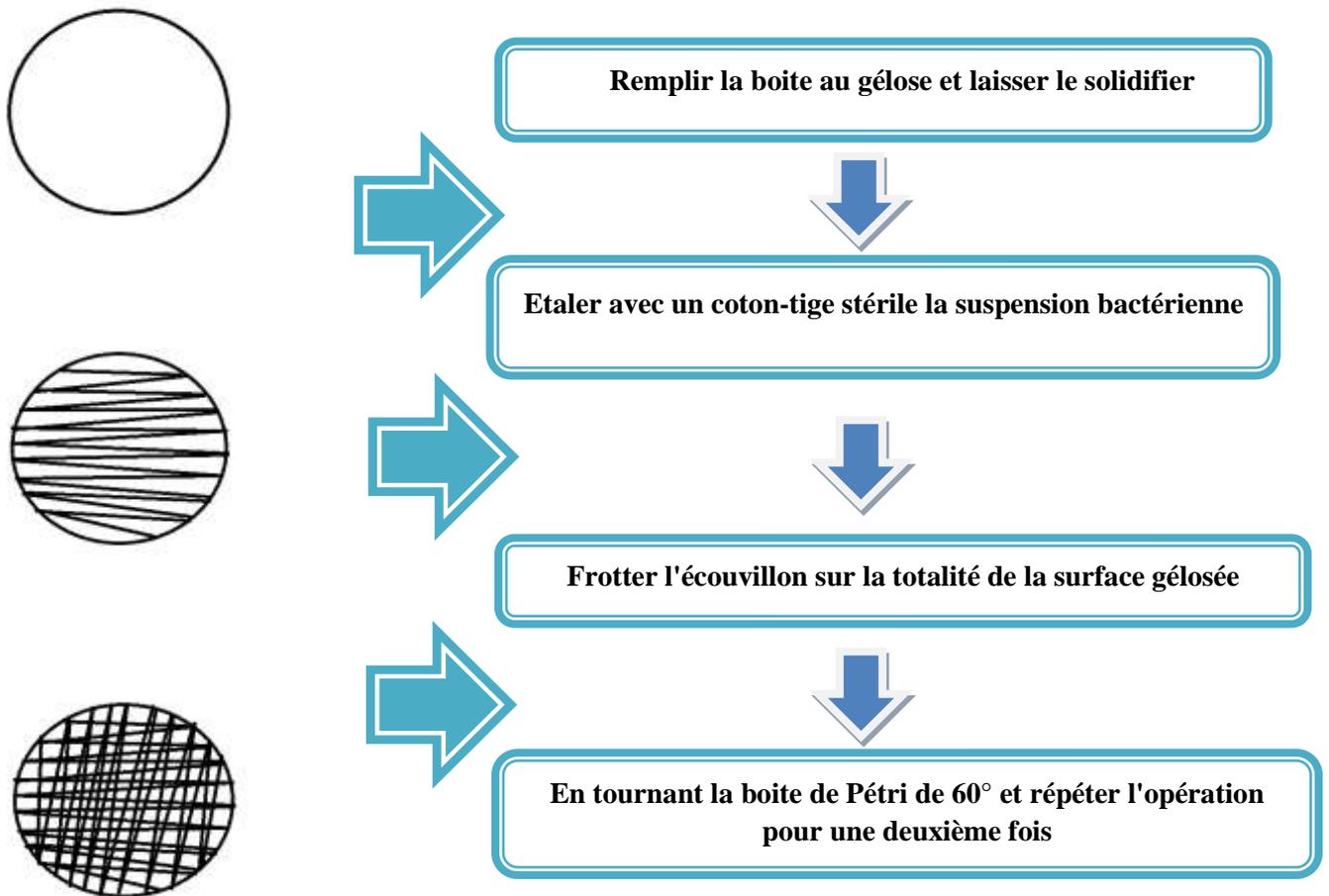


Figure16 : La méthode d'ensemencement des boîtes

III .6.3. Application des disques

III .6.3.1. Matériel:

- Disques stériles de 6 mm de diamètre
- Pince stérile
- Huiles essentielles à tester
- Gélose inoculée avec la souche microbienne à tester
- Antibiotique de référence
- Incubateur à 37°C
- Pied à coulisse
- Microplaque stérile de 96 puits
- Bouillon nutritif
- Diméthylsulfoxyde (DMSO)

III .6.3.2.Étapes

- **Préparation des disques**

- Prélever un disque stérile à l'aide d'une pince stérile.
- Imprégner le disque avec l'huile essentielle à tester à l'aide d'une pipette.
- Déposer le disque sur la surface de la gélose inoculée.
- Répéter l'opération pour chaque huile essentielle à tester et l'antibiotique de référence.
- Laisser les boîtes à température ambiante pendant 15 minutes pour permettre la diffusion des huiles essentielles et de l'antibiotique.

- **Incubation:**

- Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures puis pendant 48 heures.

- **Lecture des résultats:**

- Observer l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques.
- Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Interpréter les résultats selon le tableau suivant:

Diamètre de la zone d'inhibition Interprétation

< 8 mm	Souche résistante (-)
9 mm ≤ D ≤ 14 mm	Souche sensible (+)
15 mm ≤ D ≤ 19 mm	Souche très sensible (++)
D > 20 mm	Souche extrêmement sensible (+++)

III .7.Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI):

- La CMI est la plus petite concentration d'huile essentielle qui empêche la croissance des bactéries.
- Elle est déterminée par la technique de micro-dilution en milieu liquide.
- Préparer une gamme de concentrations d'huile essentielle allant de 15 µl/200 µl à 0,05 µl/200 µl par dilution croisée.
- Distribuer les concentrations d'huile essentielle dans les puits d'une microplaque stérile de 96 puits.
- Ajouter du bouillon nutritif et de la suspension bactérienne ou de levure dans chaque puits.

- Inclure un puits témoin négatif (bouillon nutritif uniquement) et un puits témoin positif (suspension bactérienne ou de levure et DMSO).
- Incuber la microplaque à 37°C pendant 24 heures.
- Lire les résultats et déterminer la CMI pour chaque huile essentielle.

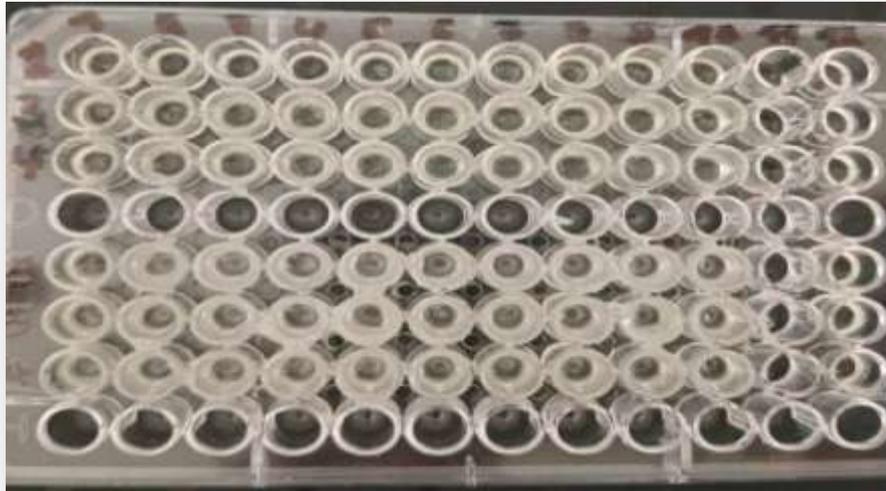


Figure 17 : Méthode de détermination de la CMI par une microplaque (figure originale).

Prend l'alcool et étaler le papier aluminium et Couvrir la microplaque et incubée à 37 °C pendant 24h. La lecture est effectuée à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration de l'huile à laquelle aucun trouble n'est observé (Eloff, 1998 ; EUCAST, 2003).

III .7.1.Le plan de la méthode

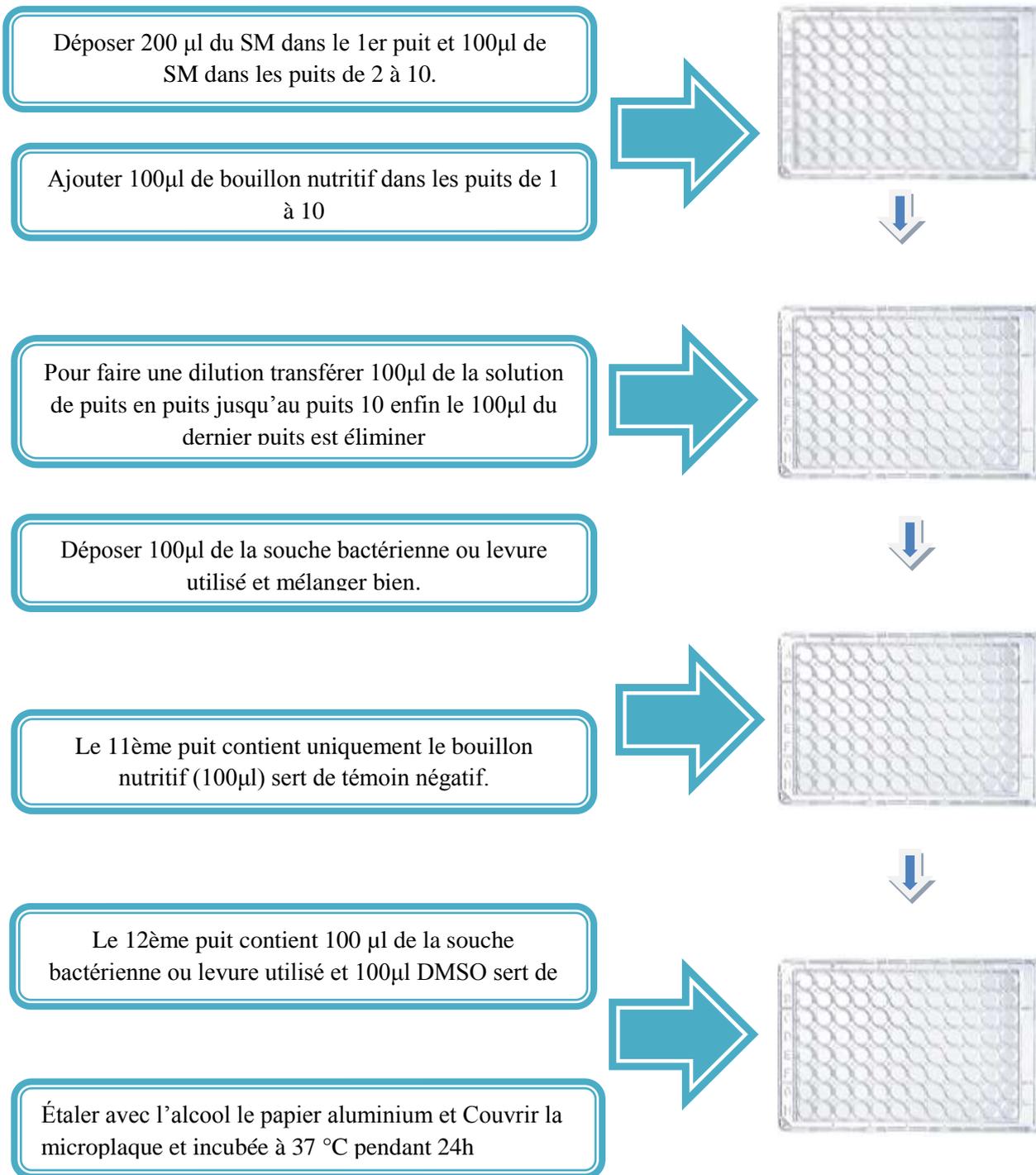


Figure 18 : La méthode de détermination de la CMI par une microplaque

Résultats
&
Discussion

CHAPITRE IV : Résultats et discussion

IV.1. Le calcul du rendement de l'huile essentielle de lentisque (*Pistacialentiscus*)

Le rendement de l'huile essentielle de lentisque, exprimé en pourcentage (%), correspond à la quantité d'huile essentielle obtenue par rapport à la masse de matière végétale utilisée pour l'extraction. Valeurs moyennes attendues pour les feuilles 0,16%

IV. 1.1. Formule de calcul:

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse d'huile essentielle} / \text{Masse de matière végétale}) \times 100$$

Les résultats obtenus sont mentionnés sur le tableau ci-dessous :

Tableau 04 : Le rendement d'huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*

	Quantité de la matière végétale sèche (g)	Quantité de l'huile (g)	Rendement %
<i>Pistacia lentiscus</i>	11000	20,9	0,19

D'après le tableau fourni, le rendement d'huile essentielle de *Pistacialentiscus* est de **0,19%**. Cela signifie que pour 1000 grammes de matière végétale sèche, on obtient en moyenne 1,9 gramme d'huile essentielle. Ce rendement est **faible** comparé à d'autres plantes aromatiques.



Figure19 : L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* (photo originale)

Afin de mieux cerner la particularité de ce résultat, il est pertinent de le comparer avec les résultats obtenus par d'autres étudiants d'universités algériennes.

IV. 1.2. Comparaison avec des études similaires

- **Étude 1 :**
 - **Réalisée par :** Dris et al. (2017), Université de Tissemsilt, Algérie.
 - **Méthode d'extraction :** Hydrodistillation.
 - **Parties de la plante :** Feuilles et rameaux.
 - **Rendement :** 0,42%.
- **Étude 2 :**
 - **Réalisée par :** Benhammou et al. (2006), Université de Béjaïa, Algérie.
 - **Méthode d'extraction :** Hydrodistillation.
 - **Parties de la plante :** Feuilles.
 - **Rendement :** 0,32%.

Le rendement d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* de 0,19% obtenu dans l'étude présentée est effectivement faible comparé à d'autres études réalisées en Algérie.

IV. 2. Résultats de l'activité antimicrobienne de *Pistacia lentiscus*:

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien des HE vis-à-vis des microorganismes. La sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques, les zones d'inhibition obtenues sont mesurées après l'incubation de 24h. Les résultats de l'aromatogramme de l'HE sont regroupés dans les tableaux suivant :

Tableau 05: diamètres des zones d'inhibition après 24 h:

Échantillons	Antibiotique	Huile de <i>Pistacia lentiscus</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 2T922	21mm	12mm
	21mm	12mm
	23mm	8mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	18mm	0
	17mm	0
	17mm	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	46mm	10mm
	44mm	10mm
	45mm	10mm
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 13316	13mm	0
	25mm	0
	22mm	0
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	45mm	25mm
	0	30m
	20mm	0

1.1. Les zones d'inhibition après 24h :



Figure 20: test de l'activité antimicrobienne des HEs de Pistacialentiscus sur *Escherichia coli* ATCC 2T



Figure 21: test de l'activité antimicrobienne des HEs de Pistacialentiscus sur *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

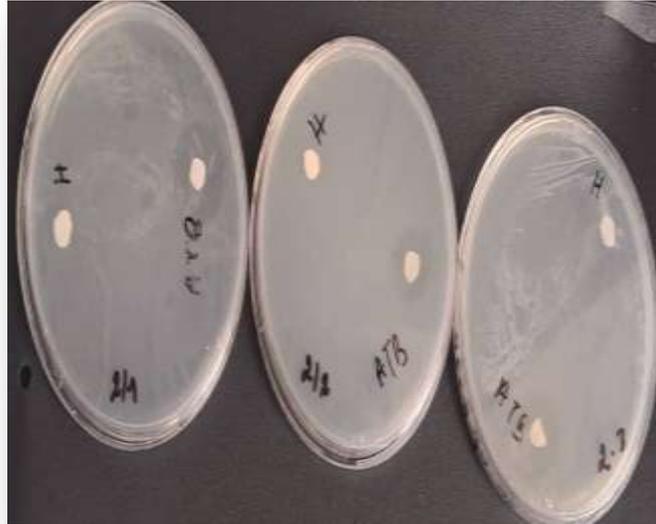


Figure 22 : test de l'activité antimicrobienne des HEs de *Pistacia lentiscus* sur *Pseudomonasaeruginosa* ATCC 27853



Figure 23 : test de l'activité antimicrobienne des HEs de *Pistacia lentiscus* sur *Citrobactèrefreundii* ATCC 13316.

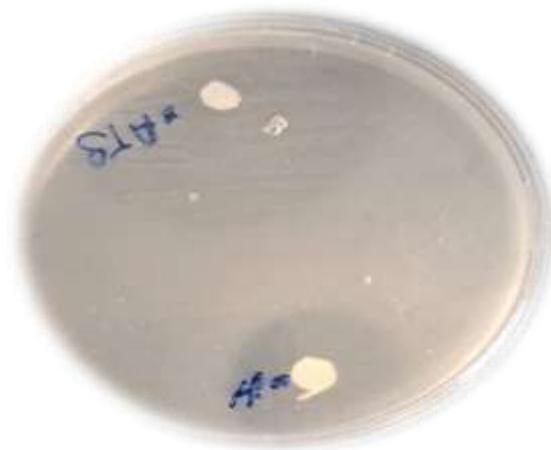


Figure 24 : test de l'activité antimicrobienne des HEs de *Pistacia lentiscus* sur *Candida albicans* ATCC10231.

Tableau 06: la sensibilité des souches bactérienne

	Huile de PISTACIA LENTISCUS
Microorganismes	Diamètre d'inhibition (mm)
<i>E. coli</i>	Résistant à sensible (- à +)
<i>P. aeruginosa</i>	Résistant (-)
<i>S. aureus</i>	Sensible (+)
<i>C. freundii</i>	Résistant (-)
<i>C. albicans</i>	Extrêmes (+++)

Le tableau présenté met en évidence l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis de différentes souches microbiennes. On observe des effets variables selon les micro-organismes testés :

- ✓ *E. coli*: L'huile essentielle montre une activité **variable** allant de résistante à sensible. Cela signifie que l'efficacité de l'huile peut varier d'une souche à l'autre d'*E. coli*. Des études plus approfondies seraient nécessaires pour déterminer l'étendue de son efficacité contre cette bactérie.
- ✓ *P. aeruginosa*: L'huile essentielle est **résistante** à cette bactérie. Cela indique qu'elle n'a pas d'effet inhibiteur sur la croissance de *P. aeruginosa*.
- ✓ *S. aureus*: L'huile essentielle est **sensible** à cette bactérie. Cela signifie qu'elle a la capacité d'inhiber la croissance de *S. aureus*. Le diamètre d'inhibition (+) suggère une activité modérée.

CHAPITRE IV : Résultats et discussion

- ✓ *C. freundii*: L'huile essentielle est **résistante** à cette bactérie. Cela indique qu'elle n'a pas d'effet inhibiteur sur la croissance de *C. freundii*.
- ✓ *C. albicans*: L'huile essentielle montre une activité **extrêmement forte** (+++) contre ce champignon. Cela signifie qu'elle a une capacité importante d'inhiber sa croissance.

IV.3. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

La CMI représente la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable d'inhiber la croissance visible d'un micro-organisme après une période d'incubation définie (Kablan, 2008). Elle permet de classer les souches bactériennes comme sensibles, intermédiaires ou résistantes à l'agent testé.

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Pistacia Lentiscus* à l'aide de la méthode de dilution en série en milieu bouillon. Pour ce faire, nous avons préparé des dilutions d'huiles essentielles dans du DMSO et les avons incorporées dans de la gélose nutritive. Des souches bactériennes Gram-positives et Gram-négatives ont ensuite été ensemencées sur les plaques ainsi préparées. Après incubation, les plaques ont été observées à l'œil nu pour détecter la présence de zones de trouble autour des puits contenant les huiles essentielles. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 07: concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus*

Puits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Souches bactériennes										
<i>E.coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>S. aureus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. freundii</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Concertations en (mg)	100	10	5	2,5	1,25	0,625	0,3125	0,15625	0,078125	0,03906

Ce tableau présente les CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices) de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* contre différentes souches bactériennes et fongiques. Les puits représentent les différentes dilutions de l'huile essentielle testées, allant de 100 mg/mL à

CHAPITRE IV : Résultats et discussion

0,03906 mg/mL. Les symboles "+" indiquent une inhibition de la croissance microbienne, tandis que les "-" indiquent une absence d'inhibition.

Observations:

- **Activité antibactérienne:** L'huile essentielle présente une activité antibactérienne notable contre *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec des CMI allant de 0,625 à 2,5 mg/ml.
- **Activité antifongique:** L'huile essentielle montre une activité antifongique contre *Candida albicans*, avec une CMI de 1,25 mg/ml.
- **Activité contre *E. coli*:** L'huile essentielle n'a pas d'effet inhibiteur significatif sur *Escherichia coli* aux concentrations testées (jusqu'à 100 mg/ml).

Les résultats de ce tableau sont en accord avec d'autres études qui ont montré que l'huile essentielle de lentisque a une activité antibactérienne et antifongique.

Par exemple, une étude réalisée par Amar et al. (2019) a montré que l'huile essentielle de lentisque avait une activité antibactérienne contre les souches de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec des CMI comprises entre 0,125 et 0,5 mg/ml.

Une autre étude réalisée par Lahlou et al. (2004) a montré que l'huile essentielle de lentisque avait une activité antifongique contre *Candida albicans*, avec une CMI de 0,625 mg/ml.



Figure 25: La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus*.

Conclusion

Conclusion

Conclusion :

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans la présente étude, nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de *Pistacia lentiscus*, vis-à-vis de souches bactériennes et fongiques. Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés biologiques différentes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques.

Notre étude a montré que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a un potentiel antimicrobien intéressant, notamment contre certaines souches de bactéries Gram-positives et Gram-négatives, ainsi que contre le champignon *Candida albicans*. Cependant, son rendement est faible et son activité antimicrobienne est variable selon les souches microbiennes. Des études plus approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre les propriétés antimicrobiennes de cette huile essentielle et pour déterminer son potentiel d'application en tant qu'agent antimicrobien naturel.

*Revue
bibliographique*

Références bibliographiques

- **AbdeldjelilS., (2016).**Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire et antibactérienne de l'huile essentielle de Pistacia lentiscus L. de la région de Sétif (Algérie). Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine.
- **AFSSAPS (2008).** Huiles essentielles: précautions d'emploi.
- **AmazianK., El Mdaghri N., Lahkim L., & Peng X., (2010).** Antibacterial activity of essential oils of Origanum compactum and Thymus maroccanus growing in Morocco. Asian Journal of Traditional Medicine, 5(2), 108-116.
- **Amhamdi, H., Fekouk, M. R., &Lahouel, S. (2009).**Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Pistacia lentiscus L. from Algeria. Journal of essential oilresearch, 21(12), 1073-1078.
- **Arab, A., Cheriti, B., Chalal, M., & Benali, M. (2014).** Chemical composition and antioxidant activity of extracts from Pistacia lentiscus L. fruits, leaves and resin. Arabian Journal of Chemistry, 7(2), 227-233.
- **Arif, T. A., & Tahir, M. I. (2018).** Antibacterial potential of medicinal plants against multidrug resistant (MDR) bacteria. Arabian Journal of Chemistry, 11(5), 886-892.
- **Bakkali, F., Averbeck, S., Auclair, C., &Verheq, M. (2008).**Effects of essential oils of thyme and clove on Escherichia coli and Staphylococcus aureus in food and water. Journal of Applied Microbiology, 104(3), 992-1000.
- **Bammou, A.,Benayache, F., & Alaoui, K. E. H. (2014).**Etude botanique et ethnobotanique de Pistacia lentiscus L. dans la région de Khémisset (Maroc). Journal of Ethnopharmacology, 155(2), 1185-1191.
- **Beldi, L., Benkhelifa, A., &Moumen, A. (2021).**Etude phytochimique et activités antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle de Pistacia lentiscus L. de la région de M'Sila (Algérie). International Journal of Green Pharmacy, 15(1), 5-11.
- **Beneteaud, J. (2011).** Les huiles essentielles: identification et propriétés. Editions Lavoisier.
- **Bouaine, H. (2017).** Huiles essentielles et santé: aspects scientifiques et usages thérapeutiques, EditionsQuae.
- **Bouaine, N. (2017).**Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Pistacia lentiscus L. de la région de Bejaia (Algérie). Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine.
- **Bozorgi, M., Farooqi, A., &Savadjoo .**

- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Editions Tec & Doc.
- **Buchbauer, G. (2011).** Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. John Wiley & Sons.
- **Buisson, M., & Teyssou, E. (2002).** Les toxi-infections alimentaires. Editions Tec & Doc.
- **Charef, A. (2011).** Les plantes médicinales et aromatiques de la région de Guelma (Algérie). Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine.
- **Chouder, A., & Drici, S. (2019).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de la région de Msila (Algérie). *International Journal of Green Pharmacy*, 13(2), 101-108.
- **Clos, F. (2012).** Les antibiotiques: mode d'action et résistance. Editions Masson.
- **Couic-Marinier, E., & Lobstein, A. (2013a).** Les huiles essentielles. Tec & Doc.
- **Dahmani, M. (2015).** Les noms vernaculaires des arbres et arbustes forestiers en Algérie. *Revue des Forêts*, 186(4), 447-454.
- **Desmares, S., Chaumont, J. P., & Couderc, J. P. (2008).** Huiles essentielles: extraction, analyse et caractérisation. Editions Tec & Doc.
- **Destandau, M. (2013).** Extraction des composés bioactifs végétaux par micro-ondes: aspects fondamentaux et applications. Editions Tec & Doc.
- **Dolatowski, J. Z., Tasić, N. M., & Mičić, N. M. (2007).** How to use ultrasound for extraction of essential oils from plant materials. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(10), 1861-1871.
- **Fadi, M. (2011).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles des feuilles de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) et de lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.) de la région de Béni Mellal-Khénifra (Maroc): application à l'activité antimicrobienne. Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- **Festy, D. (2011).** Aromathérapie familiale: Se soigner au naturel avec les huiles essentielles. Editions L'Inconnu.
- **Hacini, A., & Djelloul, M. R. (2017).** Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* et de *Rosmarinus officinalis* L. sur des souches bactériennes multirésistantes. *Der Pharma Chemica*, 9(12), 189-194.
- **Haloui, M., Oumigari, A., Belkacem, A., & Lahouel, S. (2018).** Etude ethnobotanique et phytochimique de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) dans la

région de Souk Ahras (Algérie). *Journal of Medicinal Plants and Aromatic and Essential Oils*, 12(1), 43-51.

- **Kablan, R. (2008).** *Les antibiotiques : comprendre et utiliser.* DoinEditions.
- **Kone, M. (2001).** *Les huiles essentielles d'Afrique tropicale.* Editions John LibbeyEurotext.
- **Lardy, C., & Haberkorn, M. (2007).** *Les huiles essentielles.* EditionsQuae.
- **Mnayer, B. (2014).** *Valorisation des plantes aromatiques et médicinales de la région de Béni Mellal-Khénifra (Maroc): extraction et caractérisation des huiles essentielles.* Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- **Mokkadem, A. (1999).** *La phytothérapie traditionnelle en Algérie.* Editions de la Maison du Livre.
- **Nauciel, C., & Vildé, J. (2005).** *Les antibiotiques: mode d'action et résistance.* Editions Tec & Doc.
- **Vanden Berghe, C., & Vlietinck, A. J. (1991).** Antibacterial activity of et nopharmacologically selected plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 34(1), 221-226.
- **Amar, M., Satrani, B., Benaliouet, A., & Ait M'barek, A. (2019).** Antibacterial activity of Pistacia lentiscus essential oil against foodborne pathogens. *Journal of Infection and Public Health*, 12(6), 490-494.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S18737598193001034>
- **Benabdelkader, K., Tabai, S., Benaliouet, A., & Ait M'barek, A. (2013).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 25(2), 117-123.<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf050639s>
- **Lahlou, T., Ait M'barek, A., & Benaliouet, A. (2004).** Antifungal activity of Pistacia lentiscus essential oil against Candida albicans strains. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 289-296.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7345856/>
- **Mimica, N., Mihajlovic, D., Milic, V. S., Nikolic, M., & Maksimovic, Z. (2015).** Essential oils of Pistacia lentiscus and Juniperus excelsa L.: Antioxidant activity and antimicrobial activity against respiratory tract pathogens. *Phytotherapy Research*, 29(7), 1139-1146.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9268259/>

- **Rhouza, M., Benaliouet, A., Meghzi, Z., & Ait M'barek, A. (2012).** Antibacterial activity of Pistacia lentiscus essential oil against multidrug-resistant bacteria and its synergistic effect with antibiotics. *Current Research in Microbiology*,2012(3),536-543.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10955754/>

Annexe

Annexe

Composition des milieux de cultures

1. Eau physiologique

Ingrédients	Composition
Chlorure de sodium	8,5g
Peptone	0,5g
Eau distillée	1000ml

pH= 7

Autoclavage : 120°C pendant 20mn

2. Milieu Mueller Hinton (MH)

Ingrédients	Composition
Infusion de viande de bœuf	3000 cm ³
Peptone de caséine	17,5g
Amidon de maïs	1,5g
Agar-agar	17g

pH = 7.4

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes

3. Milieu bouillon nutritif

Ingrédients	Composition
Peptones	10 g
Extrait de bœuf	1 g
Extrait de levure	2 g
Chlorure de sodium	5 g

pH = 6.8

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes.